

비소세포성 폐암종에서 Extracellular Signal Regulated Kinase (ERK)의 발현

김세훈 · 김형중¹ · 박영년 · 조상호

연세대학교 의과대학 병리학교실
'내과학교실

The Expression of Extracellular Signal Regulated Kinase (ERK) in Non-Small Cell Lung Carcinoma

Se Hoon Kim, Hyung Jung Kim¹, Young Nyun Park and Sang-Ho Cho

Departments of Pathology and ¹Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Although it was suggested that constitutive extracellular signal regulated kinase (ERK) activation plays a pivotal role in intracellular signal transduction related to oncogenesis, a consistent relationship between constitutive ERK activation and oncogenesis has not yet been clearly demonstrated. The purpose of this study is to evaluate the expression frequencies and pattern of phosphorylated ERK (p-ERK) in the non-small cell lung carcinoma (NSCLC) and to evaluate whether p-ERK is a useful prognostic factor. **Methods** : One hundred sixty cases of NSCLC tissue specimens were investigated by immunohistochemical staining for p-ERK. Clinicopathologic values (tumor stage, cell type, differentiation and presence of metastasis) and p-ERK expression of normal alveolar pneumocytes around NSCLC were compared with the incidence of tumor p-ERK expression. **Results** : Fifty-three out of 160 cases (33%) of NSCLC showed expression of p-ERK. There was no statistical correlation between the expression of p-ERK in the NSCLC neoplastic cells and the corresponding tumor stage, cell type and presence of metastasis. There was statistical significance between the expressions of p-ERK in alveolar pneumocytes around NSCLC (odds ratio: 6.130). **Conclusions** : Based on these results, we suggest that p-ERK expression is not useful in predicting the prognosis of NSCLC. In regard to the theory of "field cancerization" and the phenomenon of "allele-specific loss or allele-specific mutations", the statistically significant p-ERK expression in alveolar pneumocytes around NSCLC suggests that constitutive ERK activation is involved in the early stage of NSCLC carcinogenesis rather than in proliferation, differentiation or metastasis of NSCLC.

Key Words : Mitogen-activated protein kinase, Immunohistochemistry, Carcinoma, non-small-cell, Lung

접 수 : 2001년 5월 26일
게재승인 : 2001년 7월 27일

책임저자 : 조 상 호
우 120-752 서울시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 병리학교실
전화: 02-361-5248
Fax: 02-362-0860
E-mail: shjo@yumc.yonsei.ac.kr

외부 자극에 의한 세포내 신호전달계에는 상호작용을 하는 많은 단백질들이 관여한다. 특히 성장 인자의 자극에 의한 신호전달계(signal transduction cascade)의 변화는 세포 변형(transformation)이나 또는 세포 증식에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 성장 인자에 의한 자극은 세포막에 존재하는 수용체에 의하여 일련의 신호전달계를 거쳐 반응으로 나타난다. 이러한 신호전달계는 세포막에 존재하는 성장 인자 수용체와 세포질내 단백질кина아제의 두 단계로 크게 나눌 수 있다. 첫 단계는 세포막에서 성장인자 수용체와 adapter molecule (GRB2), guanine nucleotide exchange factor (mSOS)를 통한 GTP binding protein (Ras단백질)이 관여하며, 둘째 단계는 연속적

인 세포질내 단백질кина아제의 활성화가 일어나고 활성화된 단백질кина아제가 핵내로 이동하여 유전자 발현을 증가시킨다. 이러한 연속적인 세포질내 단백질кина아제를 분열제활성단백질кина아제(mitogen-activated protein kinase: MAPK) 신호전달계라고 한다.¹ 척추동물 세포에서는 세포외신호조절кина아제(extracellular signal regulated kinase: ERK), JNK/SAPK, 그리고 p38의 독립적인 3가지 경로의 MAPK 신호전달계가 알려져 있다.² ERK 경로는 주로 세포의 증식, 분화 및 생존 등의 반응을 촉발시키는 성장 인자에 의하여 활성화된다.³ 수용체티로신кина아제(receptor tyrosine kinase: RTK)에 성장 인자가 결합하면 active Ras-GTP가 형성되고 이후 Raf, MEKK

(MAPK kinase kinase), MEK (MAPK kinase), ERK (MAPK)이 차례로 활성화된다. 활성화된 ERK는 핵내로 이동하여 ternary complex factor (TCF) 또는 Elk를 인산화시키며, 인산화된 TCF/Elk은 serum-response factor (SRF)와 함께 *c-fos* gene의 조절부위인 serum-response element (SRE)에 결합하여 *c-fos* 전사를 활성화시킨다.⁴ 또한 ERK는 다른 단백질키나아제(예: p90^{msk}), 세포골격 단백질(예: microtubule-associated proteins), 효소(예: cytoplasmic phospholipase A2) 등의 기능을 조절하여 세포내 신호전달계에 핵심적인 역할을 하는 중간매개 산물로 생각된다.⁵ ERK에는 ERK-1 (p44^{MAPK}), ERK-2 (p42^{MAPK})의 이성체와 alternative spliced form인 MAPK (p40^{MAPK})가 있다. ERK-1과 ERK-2는 기질의 특이성에 약간의 차이가 있을 뿐 기능적으로는 같다고 여겨진다.¹

성장 인자에 의한 ERK 경로의 활성화는 일시적이어서 5분 내에 최대 수준에 도달하며, 30-60분내에 원래의 수준으로 회복된다.⁶ 그러므로 ERK의 지속적인 활성화는 종양형성에 관련된 세포내 신호전달계에서 중요한 역할을 담당할 것으로 예상된다. 그 이유는 첫째, 이 신호전달계를 활성화시키는 *ras* 유전자의 돌연변이와 그 활성화기전이 많은 종류의 암종에서 밝혀졌기 때문이다.⁴ 둘째, ERK 경로에 속한 유전자 산물들은 유전자 조절물질이며, 이들 중에는 세포분열에 관여하는 유전자들도 존재한다는 사실에 근거하고 있다.⁷ 최근 연구에서 다양한 종류의 암종(유방암종, 신장암종 등)에서 ERK의 과발현이나 활성이 알려졌다.^{8,9} ERK 활성화와 암종의 일관성 있는 상호관계는 아직 확실하게 알려져 있지 않은 상태이다. Hoshino 등¹⁰이 138종의 종양 세포주를 대상으로 ERK 활성을 고찰한 연구에 의하면 췌장, 대장, 폐, 난소, 신장에서 유래한 종양 세포의 ERK 활성화는 높은 빈도에서 관찰되었으나, 뇌, 식도, 위, 간, 혈액에서 유래한 종양 세포의 ERK 활성화는 낮은 빈도에서 관찰되어서 ERK 활성화 증가가 모든 종류의 암종에서 일어나는 일반적인 현상이 아님을 보여주었다. 비소세포성 폐암종에서는 돌연변이 *K-ras* 유전자에 의한 돌연변이 K-Ras 단백질과 ERK 활성화 증가가 실험 동물에서 확인된 연구¹¹가 있으나, ERK 발현과 비소세포성 폐암종의 관계는 아직까지 확실하게 규명되어 있지 않다.

본 연구에서는 비소세포성 폐암종을 대상으로 ERK의 활성화 형태인 phosphorylated-ERK (p-ERK)에 대한 면역조직화학 염색을 시행하여 발현 빈도, 양상 그리고 예후와의 관계를 알아보고자 하였다.

재료와 방법

재료

연세대학교 의과대학 영동세브란스 병원에서 1996년부터

1999년까지 수술 절제한 174예의 비소세포성 폐암종의 파라핀 포매 조직절편을 대상으로 하였다. 편평세포암종과 샘암종 외의 비소세포성 폐암종은 표본수가 적어 통계 처리에 부적합하기 때문에 이를 제외하고 모두 160예의 조직절편을 이용하였다. 그리고 1999년에 유방의 침윤성 관암종으로 진단되어 수술 절제한 5예, 신세포암종으로 진단되어 수술 절제한 5예를 무작위 추출하여 면역조직화학 염색의 양성 대조군으로 사용하였다.

방법

임상정보

비소세포성 폐암종의 병기는 임상기록지와 병리진단지를 이용하여 TNM stage system으로 판정하였다.¹² 수술전 화학요법이나 방사선치료를 시행한 환자는 대상에서 제외하였다.

병리조직학적 검색

비소세포성 폐암종의 경우, 종양 조직의 조직학적분류와 등급은 WHO (World Health Organization)의 기준을 따랐다.¹³ 우선 종양의 종류를 편평세포암종과 샘암종으로 분류하고, 조직학적 분화도에 따라 고분화도(well differentiated), 중등도 분화도(moderately differentiated), 저분화도(poorly differentiated)로 구분하였다.

면역조직화학염색

p-ERK의 면역조직화학 염색에는 다클론 항체인 phospho-p44/42 MAP Kinase (Thr202/Tyr204) Ab (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, U.S.A.)를 사용하였다. 파라핀 블록을 5 μ m 두께로 절편하여 poly-L-lysine-coated slides 위에 조직절편을 부착하여 60°C에서 2시간 건조시켰다. 탈파라핀하고 수세 후 구연산 완충액에 넣고 고압극초단파(750 w)에서 25분간 처리하였다. 증류수로 세척하고 Tris 완충액(pH 7.6)을 거친 후 3% 과산화수소수에 30분간 전처리하여 내인성 과산화 효소를 억제하였다. 그리고 다시 Tris 완충액(pH 7.6)을 거치고, 실온에서 1:100 fetal calf serum으로 30분간 반응한 후, 잔여 혈청은 제거하고 1:200 p-ERK 항체에 실온에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 그리고 Tris 완충액으로 세척 후 Universal LSAB peroxidase II kit (Dako, Glostrup, Denmark)와 3-amino-9-ethylcarbazole를 이용하여 발색시킨 후 증류수로 씻고, hematoxylin으로 대조염색을 하고 수용성 봉입제로 봉입하였다. 유방의 침윤성 관암종과 신세포암종을 면역조직화학 염색의 양성 대조군으로 사용하였다.

p-ERK 발현은 종양 세포의 핵에 염색된 경우일 때만 양성으로 인정하였다. p-ERK 발현을 보인 종양 세포가 전체의 1-25%인 경우는 1점, 26-50%인 경우는 2점, 그리고 51% 이상인 경우는 3점으로 반정량적인 판독을 하였다.

통계 분석

면역조직화학 염색에 의한 p-ERK 발현 결과와 환자의 병기, 조직학적 유형, 조직학적 분화도, 그리고 전이와의 관계를 Chi-square test로 분석하였다. p value의 유의수준은 0.05로 하였다. 비소세포성 폐암종의 p-ERK 발현과 주위 정상 세포의 발현과의 관계는 교차비(odds ratio)를 측정하였다. 통계 처리는 한글 SPSS for windows 7.52 (SPSS Korea, 1998)를 이용하였다.

결 과

임상 정보 및 조직학적 소견

연령 분포는 37세부터 83세였고 평균 연령은 61.07세였다. 그 중 남자는 132예, 여자는 28예였다. 병기는 IA 16예, IB 46예, IIA 8예, IIB 22예, IIIA 41예, IIIB 13예, 그리고 IV는 14예였다. 조직학적 유형으로는 편평세포암종이 85예였으며 샘암종은 75예였다. 비소세포성 폐암종의 조직학적 분화도는 고분화가 43예, 중등도 분화가 77예, 그리고 저분화가 40예였다(편평세포암종: 22/48/15, 샘암종: 21/29/25)(Table 1).

면역조직화학 염색 발현

면역조직화학 염색상 p-ERK는 비소세포성 폐암종 160예 중 53예(33%)(편평세포암종 23예, 샘암종 30예)에서 종양 세포의 핵에 발현하였다. 종양 세포의 핵뿐 아니라 양성반응을 보이는 종양 세포의 세포질에, 핵에 비해 약한 p-ERK 발현을 보였다(Fig. 1A, B). 종양 조직에서 발현 양상은 특정 위치에 국한되지 않고 불균일하게 발현되었다. 또한 160예 중 51예(32%)

Table 1. The clinicopathologic features of non-small cell lung carcinoma (n=160)

Age (year)	Mean±SD	61.07±9.51
	Range	37-83
Sex	Male	132 (82.5%)
	Female	28 (17.5%)
Stage	IA	16 (10.0%)
	IB	46 (28.8%)
	IIA	8 (5.0%)
	IIB	22 (13.7%)
	IIIA	41 (25.6%)
	IIIB	13 (8.1%)
	IV	14 (8.8%)
Cell type	SCC	85 (53.1%)
	Adenocarcinoma	75 (46.9%)
Differentiation	Well	43 (26.9%)
	Moderately	77 (48.1%)
	Poorly	40 (25.0%)

SCC: squamous cell carcinoma.

(편평세포암종 22예, 샘암종 29예)에서 종양 세포 주위의 폐포 상피세포에 부분적으로 발현하였다(Fig. 2A, 3). 그 밖에 종양 주위 혈관의 내피세포(Fig. 2B), 기질세포(Fig. 2C), 세기관지 혈관과 그보다 큰 혈관의 평활근육(Fig. 2D)에서도 부분적으로 발현하였다. p-ERK는 면역조직화학 염색의 양성 대조군인 유방의 침윤성 관암종 5예 중 4예(80%), 신세포암종의 5예 중 4예(80%)에서 특이적으로 종양 세포의 핵에서 발현하였다. 그 밖의 다른 세포들에서는 발현하지 않았다(Fig. 1C, D).

비소세포성 폐암종의 병기와 종양 세포의 p-ERK 발현간의 관련성

p-ERK는 병기 I기 62예 중 24예(39%)(+1/+2/+3: 12/8/4)에서, 병기 II기는 30예 중 7예(23%)(+1/+2/+3: 6/1/0), 병기 III기는 54예 중 17예(31%)(+1/+2/+3: 14/2/1), 그리고 병기 IV기는 14예 중 5예(36%)(+1/+2/+3: 3/2/0)에서 발현하였다(Table 2). 각 병기별 p-ERK 발현의 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다(Table 2).

비소세포성 폐암종의 조직학적 유형, 분화도 그리고 전이여부와 종양 세포의 p-ERK 발현 간의 관련성

p-ERK는 편평세포암종 85예 중 23예(27%)(+1/+2/+3: 17/5/1)에서, 샘암종 75예 중 30예(40%)(+1/+2/+3: 18/8/4)에서 발현하였으나(Table 2), 편평세포암종과 샘암종

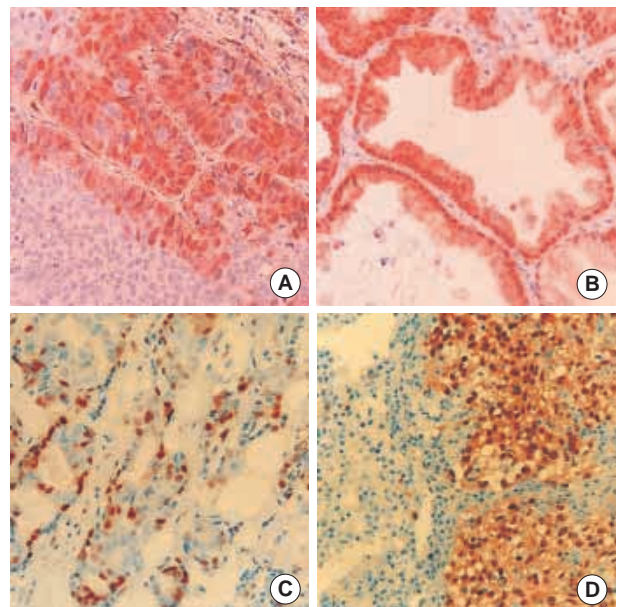


Fig. 1. Immunohistochemical staining for p-ERK shows intense nuclear and weak cytoplasmic staining in the squamous cell carcinoma of lung (A), adenocarcinoma of lung (B), infiltrating ductal carcinoma of breast (C) and renal cell carcinoma (D).

Table 2. Frequency of p-ERK expression in tumor according to the clinicopathologic parameters

Parameters		N (%)	Tumor p-ERK expression				p value
			0	+1	+2	+3	
Stage	I	62 (38.8%)	38 (23.8%)	12 (7.5%)	8 (5.0%)	4 (2.5%)	NS
	II	30 (18.7%)	23 (14.4%)	6 (3.8%)	1 (6.2%)	0 (0.0%)	
	III	54 (33.8%)	37 (23.1%)	14 (8.8%)	2 (1.3%)	1 (0.6%)	
	IV	14 (8.7%)	9 (5.6%)	3 (1.9%)	2 (1.3%)	0 (0.0%)	
Cell type	SCC	85 (53.1%)	62 (38.8%)	17 (10.6%)	5 (3.1%)	1 (0.6%)	NS
	Adenocarcinoma	75 (46.9%)	45 (28.1%)	18 (11.6%)	8 (5.0%)	4 (2.5%)	
Differentiation	Well	43 (26.9%)	22 (13.8%)	14 (8.8%)	5 (3.1%)	2 (1.3%)	NS
	Moderately	77 (48.1%)	56 (35.0%)	12 (7.5%)	6 (3.8%)	3 (1.9%)	
	Poorly	40 (25.0%)	29 (18.1%)	9 (5.6%)	2 (1.3%)	0 (0.0%)	
Metastasis	Absent	71 (44.4%)	46 (28.8%)	13 (8.1%)	8 (5.0%)	4 (2.5%)	NS
	Present	89 (55.6%)	61 (38.1%)	22 (13.8%)	5 (3.1%)	1 (0.6%)	

p-ERK: phosphorylated extracellular signal regulated kinase, SCC: squamous cell carcinoma.

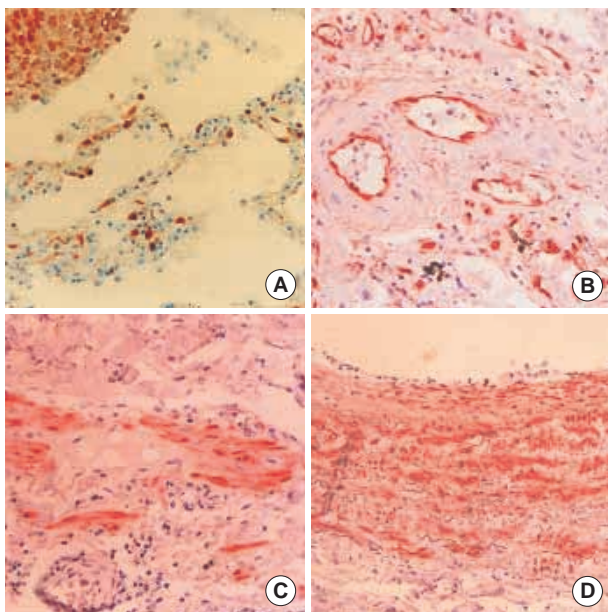


Fig. 2. Immunohistochemical staining for phosphorylated extracellular signal regulated kinase shows intense nuclear and weak cytoplasmic staining in the alveolar pneumocytes (A), around non-small cell lung carcinoma, endothelial cells (B), stromal cells (C) and smooth muscle cells (D).

간의 p-ERK 발현은 통계학적으로 차이가 없었다(Table 2).

p-ERK는 조직학적으로 고분화를 보이는 43예 중 21예 (49%)(+1/+2/+3/: 14/5/2), 중등도 분화를 보이는 77예 중 21예(27%)(+1/+2/+3/: 12/6/3), 그리고 저분화를 보이는 40예 중 11예(28%)(+1/+2/+3/: 9/2/0)에서 발현하였다(Table 2). 분화도에 따른 p-ERK 발현의 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다(Table 2). 또한 편평세포암종과 샘암종으로 나누어 조직학적 분화도와 p-ERK 발현과의 관련성을 조사하였으나, 통계학적으로 유의하지 않았다.

p-ERK는 전이가 없는 71예 중 25예(35%)(+1/+2/+3/: 13/8/4)에서 발현하였고, 주변 림프절, 중격동 림프절 그리고 원

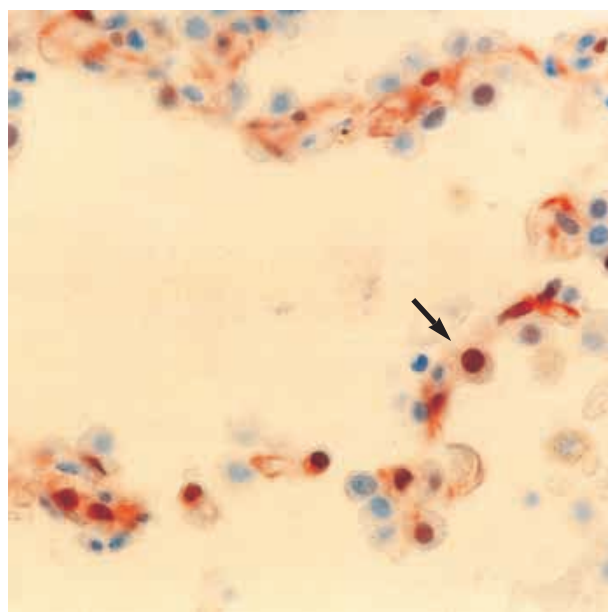


Fig. 3. Immunohistochemical staining for phosphorylated extracellular signal regulated kinase shows intense nuclear staining in the alveolar pneumocytes (arrow).

격 전이를 나타낸 89예 중 28예(31%)(+1/+2/+3/=22/5/1)에서 발현하였다(Table 2). 비소세포성 폐암종에서 전이가 없는 군과 전이가 있는 군 간에 종양 세포의 p-ERK 발현의 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다(Table 2). 또한 편평세포암종과 샘암종으로 나누어 전이 여부와 p-ERK 발현 간의 관련성을 조사하였으나 통계학적으로 유의하지 않았다.

비소세포성 폐암종의 종양 세포와 폐암종 주위의 정상 폐포상피세포의 p-ERK 발현 간의 관련성

비소세포성 폐암종과 정상 폐포상피세포 간의 교차비(odds ratio)는 6.130으로 비소세포성 폐암종의 종양 세포에서 p-ERK

Table 3. Comparison of p-ERK expression in tumor cells and alveolar pneumocytes (odds ratio=6.130)

		Normal alveolar pneumocytes		Total
		Negative	Positive	
Tumor	Negative	87 (54.4%)	20 (12.5%)	107 (66.9%)
	Positive	22 (13.6%)	31 (19.4%)	53 (33.1%)
Total		109 (68.1%)	51 (31.9%)	160 (100%)

p-ERK: phosphorylated extracellular signal regulated kinase.

발현이 있는 경우가, 발현이 없는 경우에 비해서 주위 정상 폐포상피세포의 p-ERK 발현이 더 많았고 통계학적으로 유의하였다(Table 3).

고 찰

단백질의 인산화는 세포의 증식과 분화를 포함한 세포에서 발생하는 다양한 변화를 조절하는 데 중심적인 역할을 하며, 단백질키나아제(kinase)에 의한 가역적인 인산화는 세포의 신호전달계에 중요한 역할을 한다.^{9,14} ERK는 세포분열을 촉진하는 다양한 요인에 의하여 세포내에서 티로신 인산화되는 분자로 처음 확인되었고,^{6,15} 세포내 신호전달계 어디에서나 존재하는 요소이다.¹²

신호전달계에 관련한 단백질의 비정상적인 활성화나 발현은 종양과 밀접한 관련을 가진다. 여러 종양에서 epidermal growth factor receptor tyrosine kinase (*C-erbB-1*) gene의 과발현,¹⁶ amino-terminal regulatory domain의 손실에 의한 c-Raf-1의 활성화,¹⁷ 그리고 *ras* 유전자의 점돌연변이에 의한 Ras 단백질의 지속적 활성화¹⁸ 등이 관찰되었다. 특히 *ras* 유전자의 돌연변이는 사람의 종양에서 가장 흔한 종양유전자의 이상이다.¹⁹ 또한 ERK 경로 중에서 Raf-1, MEK 등도 종양발생 가능성이 있는 것으로 알려져 있다.¹ 성장인자 수용체의 과발현, Ras 단백질의 지속적 활성화, 그리고 ERK 경로의 각 단계의 활성화 증가는 결국 최종 단계인 ERK 활성을 초래할 것이라고 생각된다. 그리고 이것이 종양의 발생, 증식과 분화에 어떠한 역할을 담당할 것이라고 예상된다.

면역조직화학 염색을 이용한 p-ERK 발현은 다른 연구 방법들⁸⁻¹¹과는 달리 구조적인 활성만을 확인할 수 있고 세포 수준에서의 ERK 활성을 정량적으로 확인할 수 없어, 어느 정도의 ERK 활성이 있어야 p-ERK 발현을 나타내는지 알 수 없다는 방법론적인 제한점이 있다. Salh 등²⁰과 Yano 등¹¹이 ERK 활성이 있는 세포를 확인하기 위해 p-ERK 면역조직화학 염색을 시행한 연구에 의하면, 유방암종의 종양 세포의 핵과 발암물질인 urethane으로 처리한 폐포상피세포의 핵에서 p-ERK 발현을 확인할 수 있었다. 또한 본 연구에서 ERK 활성의 빈도가 높은 종양이라고 알려진 유방암종¹⁰과 신세포암종⁸에서 종양 세

포에 높은 빈도(80%)로 p-ERK 발현이 관찰되었고 비교적 특이하게 발현하였다.

본 연구에서 p-ERK는 비소세포성 폐암종 종양 세포 핵과 세포질에 모두 발현하였고, 핵에 비하여 세포질은 약하게 발현하였다. 이러한 염색 결과에 대하여는 p-ERK의 비특이적인 확산에 의한 것이라기보다 세포질에 존재하는 ERK이 MEK에 의해 인산화되어 핵내로 이동하므로 핵과 세포질에 모두 염색되었고 세포질보다는 핵에 더 진하게 염색되었을 것이라고 생각할 수 있다.⁴ 또한 종양 주위의 폐포상피세포, 세기관지 혈관과 그보다 더욱 큰 혈관의 평활근육, 기질세포 그리고 내피세포에서도 부분적으로 발현하였다. 이러한 사실은 발암물질인 urethane을 처리한 생쥐의 폐포상피세포에서 면역조직화학 염색으로 p-ERK 발현을 관찰한 보고,¹¹ 고혈압, 동맥경화 등을 보이는 혈관의 평활근육에서 ERK 활성을 관찰한 보고,²¹ 섬유모세포의 증식에 ERK 경로의 활성을 관찰한 보고,²² 그리고 외부 자극에 의해 내피세포의 ERK 경로의 활성을 관찰한 보고²³ 등과 부합하는 결과라고 생각하였다. 그리고 종양 세포와 폐포상피세포를 제외한 평활근육, 기질세포 그리고 내피세포에서 p-ERK 발현을 보인 염색 결과는 외부 자극에 의한 세포의 증식에 관여하는 ERK 경로의 생리적인 현상이라고 생각된다.¹

Hoshino 등¹⁰의 연구에 의하면 34개의 폐종양 세포주의 ERK 활성을 측정한 결과, 11세포주(32%)에서만 정상 조직에 비하여 1.5배 이상의 ERK 활성을 보였고, 13세포주(38%)에서는 정상 조직의 1-1.5배의 ERK 활성을 보였다. 본 연구에서 p-ERK는 160예 중 53예(33%)의 종양 조직내의 종양 세포의 핵에서 양성 반응을 보였다. Hoshino 등¹⁰의 연구는 ERK의 효소활성을 측정한 것이고, 본 연구는 면역조직화학 염색을 이용한 발현을 확인한 결과이기 때문에 단순히 비교하기에는 곤란하지만, 결론적으로 비소세포성 폐암종의 일부(약 1/3가량)에서 ERK 활성이 존재할 것이라는 것을 알 수 있다.

ERK 활성화와 암종과의 일관성 있는 상호관계는 아직 확실하게 알려지지 않은 상태이다. Hoshino 등¹⁰이 췌장, 대장, 폐, 난소, 신장에서 유래한 종양 세포의 ERK 활성은 높은 빈도에서 관찰되었으나, 뇌, 식도, 위, 간, 혈액에서 유래한 종양 세포의 ERK 활성은 낮은 빈도에서 관찰됨을 보고하였고, 박 등²⁴은 직장결장암종에서는 ERK 활성도가 정상 조직보다 낮게 나타남을 밝혔다. 이는 MAPK의 활성화도가 모든 종류의 종양에서 일어나는 일반적인 현상이 아님을 보여주고 있다. 이와 같은 결과는 Woods 등⁷과 Sewing 등²⁵의 세포주를 이용한 실험 결과와도 일치되었는데, 이들은 ERK 경로의 활성화가 생리적 조건의 변화 혹은 세포주에 따라서는 세포의 성장 촉진이 아닌 저해를 유도할 수도 있다고 보고하였다. 이와 같은 연구 결과들은 ERK 경로가 세포의 성장 기능뿐만 아니라 세포의 성장 저해라는 상반되는 기능들을 동시에 수행할 수 있음을 시사한다.²⁶ 그러나 본 연구결과에서 1/3 가량의 비소세포성 폐암종에서 ERK 활성이 존재하는 것으로 보아 ERK 활성은 비소세포성 폐암종

의 발생에 있어서 어떤 역할을 한다고 추론할 수 있다.

Yano 등¹¹은 발암물질인 urethane으로 종양을 유발한 생쥐의 폐에 대한 연구에서, 증식전의 초기 단계의 폐포상피세포에서도 *K-ras* 유전자 돌연변이와 ERK 활성이 존재함을 밝혀 폐종양 형성의 과정 초기에 ERK 활성이 중요한 역할을 할 가능성을 시사하였다. 본 연구에서 51예(31.9%)의 비소세포성 폐암종에서 주위의 형태학적으로 정상으로 관찰되는 폐포상피세포에 p-ERK이 발현하였고, 종양과 동시에 발현한 경우는 31예(19.4%)였다. 그리고 종양 세포에서 p-ERK 발현이 있는 경우가 그렇지 않은 경우에 비해 주위 정상 폐포상피세포의 p-ERK 발현율이 통계학적으로 유의하게 높았다. 이것은 비소세포성 폐암종의 “field cancerization”과 “allele-specific loss 또는 allele-specific mutation”에 비추어 보아,^{27,28} 종양 주위의 정상 폐포상피세포의 p-ERK 발현은 ERK 활성이 비소세포성 폐암종의 형성 초기 단계에 관여할 것이라는 사실을 시사하는 증거라고 생각된다. Oka 등은 신세포암종을 대상으로 ERK 활성을 측정 한 연구에서 신세포암종의 핵등급이 높을수록, 그리고 병리학적 병기가 높을수록 ERK 활성이 증가함을 밝혔다. 그러나 본 연구에서 통계학적으로 비소세포성 폐암종의 병기, 조직학적 유형, 또는 분화도별 p-ERK 발현의 차이는 유의하지 않았다. Webb 등²⁹은 ERK 활성이 세포 운동성, 이동 그리고 urokinase proteolytic activity와도 관련이 있어 종양의 전이와 관계가 있다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서 비소세포성 폐암종의 전이 여부와 p-ERK 발현 간에는 통계학적으로 연관성이 없었다. 이러한 결과에서 면역조직화학 염색을 이용한 p-ERK 발현은 비소세포성 폐암종의 증식, 분화 그리고 전이를 예측하는 예후인자로서 유용성은 낮다고 생각한다. 결론적으로 본 연구 결과에서는 ERK 활성이 비소세포성 폐암종의 증식, 분화, 전이보다는 초기 발생단계에 중요한 역할을 할 것으로 생각하였다.

참고문헌

1. Seger R, Krebs EG. The MAPK signaling cascade. *FASEB J* 1995; 9: 726-35.
2. Cobb MH, Goldsmith EJ. How MAP kinases are regulated. *J Biol Chem* 1995; 270: 14843-6.
3. Magnuson NS, Beck T, Vahidi H, Hahn H, Smola U, Rapp UR. The Raf-1 serine/threonine kinase. *Semin Cancer Biol* 1994; 5: 247-53.
4. Hunter T. Oncoprotein networks. *Cell* 1997; 88: 333-46.
5. Davis RJ. The mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway. *J Biol Chem* 1993; 268: 14553-6.
6. Kohno M. Diverse mitogenic agents induce rapid phosphorylation of a common set of cellular proteins at tyrosine in quiescent mammalian cell. *J Biol Chem* 1985; 260: 1771-9.
7. Woods D, Parry D, Cherwinski H, Bosch E, Lees E, McMahon M. Raf-induced proliferation or cell cycle arrest is determined by the level of Raf activity with arrest mediated by p21Cip1. *Mol Cell Biol* 1996; 17: 5598-611.
8. Oka H, Chatani Y, Hoshino R, *et al.* Constitutive activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase in human renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1995; 55: 4182-7.
9. Sivaraman VS, Wang HY, Nuovo GJ, Malbin CC. Hyperexpression of mitogen-activated protein kinase in human breast cancer. *J Clin Invest* 1997; 99: 1478-83.
10. Hoshino R, Chatani Y, Yamori T, *et al.* Constitutive activation of the 41-/43-kDa mitogen-activated protein kinase signaling pathway in human tumors. *Oncogene* 1999; 18: 813-22.
11. Yano T, Yano Y, Nagashima Y, *et al.* Activation of extracellular signal-regulated kinase in lung tissues of mice treated with carcinogen. *Life Sci* 1999; 64: 229-36.
12. Mountain CF. Revisions in the international system for staging lung cancer. *Chest* 1997; 111: 1710-7.
13. Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y, Brambilla E. Histological typing of lung and pleural tumours. 3rd ed. Berlin: Springer, 1999.
14. Pawson T. Protein modules and signaling networks. *Nature* 1995; 373: 573-80.
15. Cooper JA, Sefton BM, Hunter T. Diverse mitogenic agents induce the phosphorylation of two related 42,000-dalton proteins on tyrosine in quiescent chick cells. *Mol Cell Biol* 1984; 4: 30-7.
16. Yao M, Shuin T, Misaki H, Kubota Y. Enhanced expression of c-myc and epidermal growth factor receptor (C-erbB-1) genes in primary human renal cancer. *Cancer Res* 1988; 48: 6753-7.
17. Nakatsu Y, Nomoto S, Oh-uchida M, Shimizu K, Sekiguchi M. Structure of the activated c-raf-1 gene from human stomach cancer. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1986; 51: 1001-8.
18. Bos JL. The ras gene family and human carcinogenesis. *Mutation Res* 1988; 195: 255-71.
19. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Neoplasia. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T, editors. Pathologic basis of disease. 6th ed. Pennsylvania: WB Saunders, 1999; 280-2.
20. Salh B, Marotta A, Matthewson C, *et al.* Investigation of the Mek-MAP kinase-Rsk pathway in human breast cancer. *Anticancer Res* 1999; 19: 731-40.
21. Begum N, Song Y, Rienzie J, Ragolia L. Vascular smooth muscle cell growth and insulin regulation of mitogen-activated protein kinase in hypertension. *Am J Physiol* 1998; 275: Pt1, C42-9.
22. Brunet A, Pages G, Pouyssegur J. Constitutively active mutants of MAP kinase kinase (MEK1) induce growth factor-relaxation and oncogenicity when expressed in fibroblasts. *Oncogene* 1994; 9: 3379-87.

23. Jalali S, Li YS, Sotoudeh M, *et al*. Shear stress activates p60src-Ras-MAPK signaling pathway in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 227-34.
24. Park KS, Kim NG, Kim JJ, Kim H, Ahn Y, Choi KY. Differential regulation of MAP kinase cascade in human colorectal tumorigenesis. *Br J Cancer* 1999; 81: 1116-21.
25. Sewing A, Wiseman B, Lloyd AC, Land H. High intensity Raf signal causes cell cycle arrest mediated by p21Cip1. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 5588-97.
26. Kim JJ. Mutation and overexpression of C-kit gene products and analysis of MAPK signal transduction system in gastrointestinal stromal tumors. [A thesis for a master] Seoul: Yonsei Univ; 1999.
27. Trump BF, McDowell EM, Glavin F, *et al*. The respiratory epithelium: III. Histogenesis of epidermoid metaplasia and carcinoma in situ in the human. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61: 563-75.
28. Minna JD, Sekido Y, Fong KM, Gazdar AF. Cancer of the lung, molecular biology of lung cancer. In: Devita J VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Principles and practice of oncology*. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1997; 849-57.
29. Webb CP, Van Aelst L, Wigler MH, Vande Woude GF. Signaling pathways in ras-mediated tumorigenicity and metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8773-8.